

••• БІОТЕХНОЛОГІЯ ••• BIOTECHNOLOGY •••

УДК: 579. 695

Метал-акумуляюча та деструктивна активність іммобілізованих бактерій в біотехнології очищення морської води **О.Г.Горшкова, Т.В.Гудзенко, О.В.Волювач, Н.Ю.Васильєва**

Одеський національний університет імені І.І.Мечникова (Одеса, Україна)
tgudzenko@ukr.net

Проведено порівняльний аналіз метал-акумуляючої та деструктивної активності морських бактерій в біотехнології очищення багатокомпонентної за складом поліютантів морської води. Підвищенню метал-акумуляючій і ПАВ- (ПАВ: поверхнево-активна речовина) та нафтодеструктивній активності асоціації бактерій *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327, №38, №39, №41, №47 сприяла іммобілізація на синтетичному носії типу «ВІЯ». Експериментальне випробування підтвердило, що при використанні біохімічно активних іммобілізованих бактерій досягаються максимальні результати по очищенню морської води як від неорганічних, так і органічних поліютантів. Ступінь очищення від органічних сполук досягав максимуму за обробки води іммобілізованими бактеріями у складі біофлорів на поверхні штучного носія – 74,0% для додецилсульфату натрію і 83,0% для вуглеводнів нафти; від неорганічних сполук – за обробки води клітинами бактерій, іммобілізованими на штучному носії без флокуляції – 64,4% для Cr (VI) і 71,6% для Cu (II). Виявлене дозволяє рекомендувати використовувати іммобілізовані бактерії з поліфункціональною активністю у новій технології очищення морської води в умовах багатокомпонентного за складом поліютантів забруднення.

Ключові слова: *метал-акумуляюча та деструктивна активність, іммобілізовані бактерії, хімічні забруднювачі, біотехнологія очищення морської води.*

Metal-accumulating and destructive activity of immobilized bacteria in seawater biotechnology

O.G.Gorshkova, T.V.Gudzenko, O.V.Voliuvach, N.Yu.Vasylieva

A comparative analysis of the metal-accumulating and destructive activity of marine bacteria in biotechnology for the purification of sea water with multicomponent contamination has been carried out. Increase of metal-accumulating and surfactant- and oil-destructive activity of the association of bacteria *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327, No. 38, No. 39, No. 41, No. 47 has been promoted by immobilization on synthetic carriers such as "VIA". The experimental test has confirmed that the use of biochemically active immobilized bacteria gives maximum results in purification of sea water from both inorganic and organic pollutants. The degree of purification from organic compounds reached a maximum when water was treated with immobilized bacteria in the composition of bioflocs on the surface of an artificial carrier – 74.0% for sodium dodecylsulfate and 83.0% for petroleum hydrocarbons; from inorganic compounds – when treating water with bacterial cells immobilized on an artificial carrier without flocculation, 64.4% for Cr (VI) and 71.6% for Cu (II). These results allow recommending the use of immobilized bacteria with polyfunctional activity in a new technology for treating sea water with multicomponent pollution.

Key words: *metal-accumulating and destructive activity, immobilized bacteria, chemical pollutants, sea water purification biotechnology.*

Металл-аккумулирующая и деструктивная активность иммобилизованных бактерий в биотехнологии очистки морской воды **Е.Г.Горшкова, Т.В.Гудзенко, О.В.Волювач, Н.Ю.Васильєва**

Проведен сравнительный анализ металл-аккумулирующей и деструктивной активности морских бактерий в биотехнологии очистки многокомпонентной по составу загрязнителей морской воды. Повышению металл-аккумулирующей и ПАВ- (ПАВ: поверхностно-активное вещество) и нефтеструктивной активности ассоциации бактерий *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *P. maltophilia*

ONU329, *P. seracia* ONU327, №38, №39, №41, №47 способствовала иммобилизация на синтетическом носителе типа «ВИЯ». Экспериментальное испытание подтвердило, что при использовании биохимически активных иммобилизованных бактерий достигаются максимальные результаты по очистке морской воды как от неорганических, так и органических загрязнителей. Степень очистки от органических соединений достигала максимума при обработке воды иммобилизованными бактериями в составе биофлокул на поверхности искусственного носителя – 74,0% для додецилсульфата натрия и 83,0% для углеводородов нефти; от неорганических соединений – при обработке воды клетками бактерий, иммобилизованными на искусственном носителе без флокуляции – 64,4% для Cr (VI) и 71,6% для Cu (II). Обнаруженное позволяет рекомендовать использовать иммобилизованные бактерии с полифункциональной активностью в новой технологии очистки морской воды в условиях многокомпонентного по составу поллютантов загрязнения.

Ключевые слова: металл-аккумулирующая и деструктивная активность, иммобилизованные бактерии, химические загрязнители, биотехнология очистки морской воды.

Вступ

В різних районах Чорного моря спостерігається перевищення рівня гранично допустимих концентрацій (ГДК) нафтопродуктів, синтетичних поверхнево-активних речовин (ПАР) і таких іонів важких металів (ІВМ), як: Cr (VI), Zn (II), Cu (II) (Зайцев, 2006; Chasovnikov et al., 2016; Levent Altas, Hanife Buyukgungor, 2007; Koray Ozseker et al., 2013; Min'kovskaya, 2014). На здоров'я людей негативно впливає навантаження рекреаційних прибережних зон моря токсичними хімічними речовинами, з якими природні біологічні агенти (водорості, молюски, мікроорганізми) процесів самоочищення не завжди справляються (Вергейчик, 2009). Викладене свідчить про необхідність розробки нових екологічно безпечних біотехнологій ремедіації води від хімічного забруднення, які передбачають використання морських бактерій. Незважаючи на те, що більшість з відомих мікроорганізмів роду *Pseudomonas* володіють високим біотехнологічним потенціалом, їх з причини патогенності (наприклад *P. aeruginosa*) не використовують в охороні навколишнього середовища (Galkin et al., 2015). В останній час найбільш перспективним напрямком в біотехнології очищення води від поллютантів є використання іммобілізованих біохімічно активних непатогенних штамів мікроорганізмів, що володіють метал-акумулюючою та деструктивною активністю по відношенню до органічних поллютантів (Гудзенко та ін., 2012; Глоба, Гвоздяк, 2015; Gudzenko et al., 2014).

Мета дослідження – оцінка метал-акумулюючої, ПАР- та нафтодеструктивної активності іммобілізованих бактерій в біотехнології очищення морської води від поллютантів.

Матеріали та методи досліджень

Об'єктом дослідів були біохімічно активні непатогенні штами морських мікроорганізмів, що зберігаються в музейній колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І.І.Мечникова. Дослідження їх біотехнологічних властивостей – метал-акумулюючої, ПАР- та нафтодеструктивної активності проведено при використанні в різних технологіях очищення багатокомпонентної за складом поллютантів морської води – із вмістом у ній неорганічних (іони важких металів) і органічних (нафта, ПАР) речовин у концентраціях, що перевищують ГДК.

Культивували бактерії при температурі 28°C, рН 7, на живильному пептонно-сольовому середовищі М-9 складу (г/л): KH_2PO_4 – 1,5; Na_2HPO_4 – 3; NaCl – 5; NH_4Cl – 1; пептон – 10; глюкоза – 2; дріжджовий екстракт – 5.

Для іммобілізації бактерій використовували волокнисту насадку – синтетичний носій із ультратонкого гладкого і текстурованого волокна, змонтованого у вигляді плоскої «ВІІ» ТУ995990 (далі по тексту статті просто носій), що забезпечує масообмін і перманентну регенерацію носія, на якому добре розвивається біоплівка мікроорганізмів. Відомо (Глоба, Гвоздяк, 2015), що волокнисті носії типу «ВИЯ» не мають собі рівних у світі за питомою площею поверхні і найважливішими технологічними параметрами. Біологічну модифікацію синтетичного носія здійснювали двома способами – іммобілізованими у складі биофлокул (отриманих за присутності 3% розчину перекису водню і 10% розчину хлориду кальцію) і вільними клітинами бактерій.

До початку проведення досліджень в незабрудненій зоні Чорного моря, в районі Гідробіологічної станції ОНУ 04.07.2016 р. відібрали проби морської води. Аналіз морської води здійснювали згідно з (Унифицированные методы, 1971). У морській воді концентрація Cu (II) складала 18 ± 4 мкг/л, концентрації вуглеводнів нафти, аніонних ПАР, Cr (VI) ($0,010 \pm 0,005$ мкг/л) і Zn (II) ($0,030 \pm 0,005$ мкг/л) не перевищували їх ГДК (Обобщенный перечень, № 12-04-11). У

незабруднені проби морської води дозовано вводили розчини солей, що містили концентрацію по Cr (VI) 50 мкг/л (50,0 ГДК_{Cr}), по Zn (II) 100 мкг/л (2,0 ГДК_{Zn}), по Cu (II) – 50 мкг/л (10 ГДК_{Cu}), розчин аніонної ПАР (додецилсульфат натрію, ДДСН) – 5,0 мг/л (10,0 ГДК_{ПАР}) і нафту (нафту густиною 0,84 г/см³ вводили у диспергованому стані) – 0,5 мг/л (10,0 ГДК_{нафта}). Це обумовлено тим, що нами впродовж 2015 року в різних районах Чорного моря (острів Зміїний, 16 ст. Великого Фонтану, Дачі Ковалевського) у відібраних згідно з ГОСТ 17.1.5.05-85 (ГОСТ 17.1.5.05-85) пробах морської води було зафіксовано перевищення таких IBM, як: Cr (VI) в діапазоні концентрацій від 10 до 32 мкг/л, Zn (II) в діапазоні концентрацій від 50 до 61 мкг/л, Cu (II) на рівні концентрацій 10–11 мкг/л, вуглеводнів нафти – 0,375–0,5 мг/л і аніонних ПАР – 2,0 мг/л.

Для постановки в лабораторних умовах дослідів використовували розчини K₂Cr₂O₇ (68,0 мг K₂Cr₂O₇/100 мл H₂O), ZnSO₄·7H₂O (44,0 мг ZnSO₄·7H₂O/100 мл H₂O), CuSO₄·5H₂O (19,5 мг кристалогідрату CuSO₄·5H₂O/100 мл H₂O).

Концентрації хімічних речовин у забруднених пробах морської води математично складали з тими концентраціями, що були зафіксовані в пробах морської води, відібраної із незабрудненої прибережної зони Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І.Мечникова. Таким чином, перед початком проведення очищення морської води (контроль) в ній містились: Cr (VI) – 50,01 мкг/л; Zn (II) – 100,03 мкг/л; Cu (II) – 68,0 мкг/л; нафта – 0,5 мг/л; ДДСН – 5,0 мг/л.

Оцінку метал-акумуючої, ПАР- та нафтодеструктивної активності іммобілізованих бактерій здійснювали за ступенем очищення морської води від політантів:

$$\alpha = [(C_0 - C) / C_0] \cdot 100\%, \quad (1)$$

де C₀ і C – концентрації конкретного політанта до та після обробки.

Концентрацію IBM визначали атомно-абсорбційним методом на полум'яному атомно-абсорбційному спектрофотометрі «Сатурн-2» у полум'ї суміші «повітря – пропан – бутан» при відповідних довжинах хвиль: 324,7 нм для Cu; 213,9 нм для Zn тощо; вміст аніонної ПАР (додецилсульфату натрію, ДДСН) визначали екстракційно-фотометричним методом (Унифицированные методы, 1971), вуглеводнів нафти – методом ІЧ-спектрометрії. Аналітичні сигнали реєстрували FTIR-спектрометром Frontier фірми PerkinElmer в діапазоні хвильових чисел 3200–2700 см⁻¹, де фіксували валентні коливання CH₃- і CH₂-груп аліфатичних і аліциклічних сполук і бічних ланцюгів ароматичних вуглеводнів, вуглець-водневих зв'язків ароматичних сполук (Леоненко і др., 2010).

Усі досліди проводили в п'яти повторностях. Статистична обробка результатів була проведена з використанням двохфакторного дисперсійного аналізу ANOVA за допомогою програми Statistica. У якості незалежних факторів розглядали спосіб обробки і тип забруднювача, як залежна змінна розглядався показник частки забруднювача в очищеній воді у порівнянні з контролем.

Результати та обговорення

Вперше для біологічного очищення морської води нами запропоновано використовувати мікробний реагент – асоціацію бактерій, складену із колекційних штамів *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas maltophilia* ONU329, *Pseudomonas cepacia* ONU327 та морських штамів: №38, №39, №41, №47 – антагоністів патогенних бактерій, взятих у однаковому об'ємному співвідношенні.

Для зменшення витрат мікробного реагенту із збереженням біохімічної активності мікроорганізмів та можливого підвищення ступеня очищення багатокомпонентної морської води із вмістом у ній неорганічних (іони важких металів) і органічних (нафта, ПАР) речовин у концентраціях, що перевищують ГДК, використали різні технології іммобілізації мікроорганізмів на носії типу «ВІЯ» з високою адсорбційною здатністю щодо органічних сполук, особливо нафтопродуктів (Глоба, Гвоздяк, 2015; Гвоздяк та ін., 2013). Вперше використано нову технологію іммобілізації мікроорганізмів у складі біофлорів, що дозволила посилити адгезію бактеріальних клітин (обробка №1) до поверхні штучного носія зі збереженням їх функціональної активності. Крім того, використовували клітини бактерій без флокуляції, іммобілізовані на штучному носії (обробка №2), та вільні клітини асоціації бактерій (обробка №3).

Результати оцінки метал-акумуючої активності іммобілізованих бактерій за ступенем очищення морської води від Cr (VI), Zn (II), Cu (II) представлені на рис. 1.

Із одержаних експериментальних даних можна констатувати: Zn-акумулююча активність була найбільш високою у бактерій у складі біофлорів, іммобілізованих на штучному носії – ступінь очищення води від цього металу складав 75,5%. Іммобілізація бактерій на штучному носії без флокуляції сприяла підвищенню їх метал-акумулюючої активності відносно Cr (VI) (65%) і Cu (II) (70%). Низька акумулююча активність вільних клітин бактерій по відношенню до іонів важких металів свідчить про те, що в процесі їх вилучення із морської води вагоме значення мають процеси сорбції.

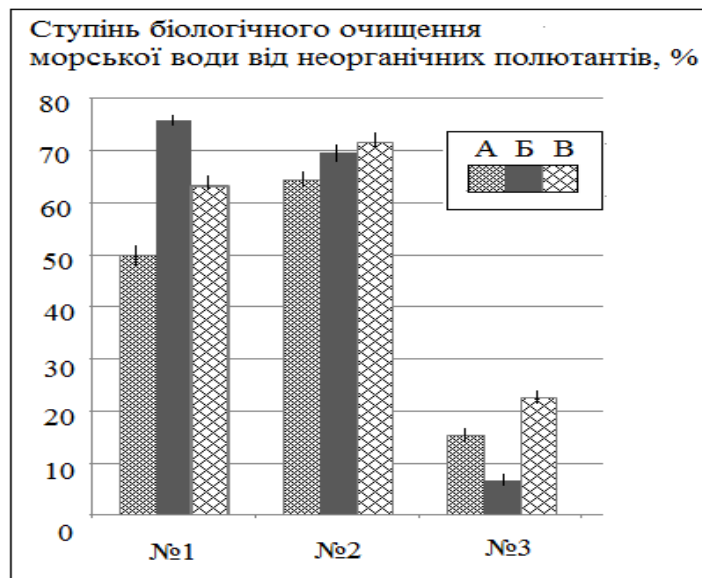


Рис. 1. Метал-акумулююча активність іммобілізованих бактерій за ступенем очищення морської води від Cr (VI) (A), Zn (II) (B), Cu (II) (B)

Позначення: обробка №1 – іммобілізованими бактеріями у складі біофлорів на поверхні штучного носія; обробка №2 – клітинами бактерій, іммобілізованими на штучному носії без флокуляції; обробка №3 – вільними клітинами бактерій.

Порівняльний аналіз показав, що незважаючи на те, що вихідна концентрація хрому шестивалентного, який є найотруйливішим для мікроорганізмів, значно перевищувала ГДК (50,0 ГДК_{Cr}) порівняно з іншими забруднювачами (2,0 ГДК_{Zn}; 13,6 ГДК_{Cu}; 10,0 ГДК_{нафта}; 10,0 ГДК_{ддсн}), активність іммобілізованих мікроорганізмів щодо ІВМ не пригнічувалась. Ступінь очищення морської води від Cr (VI), Zn (II) і Cu (II) вільними клітинами асоціації бактерій за відсутності носія (№3) дорівнював 15,4%, 6,8% і 22,7% відповідно. Експериментально підтверджено, що використання вільних та іммобілізованих бактерій для вилучення Cr (VI) із багатокомпонентної забрудненої морської води підвищується в наступному ряді: №3 ($\alpha=15,4\%$) < №1 ($\alpha=50,0\%$) < №2 ($\alpha=64,4\%$). Тобто найефективнішою є обробка з використанням носія з іммобілізованими на його поверхні клітинами бактерій (№2).

Аналогічна закономірність спостерігалась і при очищенні морської води від Cu (II): №2 ($\alpha=71,6\%$) > №1 ($\alpha=63,1\%$) > №3 ($\alpha=22,7\%$) > контроль ($\alpha=18,8\%$). Залишкова концентрація Cu (II) у морській воді за її обробки носієм з іммобілізованими на його поверхні клітинами мікробного реагенту хоча і не відповідала ГДК_{Cu}, але суттєво зменшилась з 13,6 ГДК до 4,0 ГДК. Ступінь очищення морської води від Cu (II) за умов наявності у ній інших супутніх забруднювачів органічної та неорганічної природи був максимальним за обробки носієм з іммобілізованими на його поверхні клітинами бактерій. У контролі від початку дослідів концентрація Cu (II) зменшилась на 18,8%, що мабуть, пояснюється їх зв'язуванням з аніонною ПАР у комплексноподібні сполуки, більшість з яких є стійкими. При детоксикації морської води від Zn (II) усіма випробовуваними обробками за присутності пропонованого нами метал-резистентного мікробного реагенту спостерігалась дещо інша картина. Ступінь очищення морської води від Zn (II) порівняно із ступенем очищення води від

Cr (VI) і Cu (II) був максимальним (75,5%) за її обробки носієм з іммобілізованими на його поверхні біофлоклами бактерій (№1).

Результати оцінки ПАР- і нафтодеструктивної активності іммобілізованих бактерій за показником ефективності очищення морської води від органічних поллютантів (за присутності перелічених вище IBM) представлені на рис. 2.



Рис. 2. ПАР- і нафтодеструктивна активність іммобілізованих бактерій за ступенем очищення морської води від вуглеводнів нафти (А), додецилсульфату натрію (Б)

Позначення: обробка №1 – іммобілізованими бактеріями у складі біофлоків на поверхні штучного носія; обробка №2 – клітинами бактерій, іммобілізованими на штучному носії без флокуляції; обробка №3 – вільними клітинами бактерій.

В результаті досліджень встановлено, що найбільш висока здатність окиснювати органічні сполуки була притаманна бактеріям, іммобілізованим у складі біофлоків на поверхні штучного носія. Високу ПАР- і нафтодеструктивну активність проявляли також іммобілізовані на штучному носії бактерії без флокуляції. Використання вільних клітин бактерій підтвердило їх високий окиснювальний потенціал по відношенню до органічних сполук.

З рис. 2 видно: ступінь біологічного очищення морської води від нафти є максимальним і складає 83% за її обробки іммобілізованими у складі біофлоків бактерій (№1). Як показали наші попередні дослідження, штами *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas maltophilia* ONU329, *P. serasia* ONU327 є ефективними деструкторами нафти (Gudzenko et al., 2013). Необхідно зазначити, що ефективність очищення морської води від ДДСН за біотехнологічної обробки №1 і обробки №2 однакова, $\alpha=72-74\%$, а за мікробіологічної обробки №3 складає 57%, тобто використані мікроорганізми здатні споживати ПАР як одне із джерел карбонового харчування.

Статистична обробка з використанням ANOVA показала, що і метал-акумулююча активність, і ПАР- і нафтодеструктивна активність залежать як від способу обробки, так і від типу забруднювача. Розраховані показники критерію Фішера склали $F=929,48$, $F=52,38$ відповідно для кожного з факторів впливу ($p<0,00001$, рис. 1 і 2).

Найбільш цікавим було саме дослідити і підтвердити взаємодію способу обробки синтетичного носія типу «ВІЯ» з технологією іммобілізації на його поверхні бактерій. Використання двохфакторного дисперсійного аналізу дозволило наочно довести значимість використання комбінованого підходу для створення біологічної технології для очищення води від забруднювачів різного типу в залежності від типу носія та іммобілізації бактерій.

Як видно з рис. 3, використання технології іммобілізації значно покращує ефективність очищення води. У варіанті обробки води вільними клітинами бактерій за відсутності синтетичного носія (обробка №3) залишкова концентрація конкретного поллютанта відрізнялась від контролю

незначуще. Це також підтверджується результатами, наведеними на рис. 1 і 2. При використанні першого (обробка №1) або другого варіанту (обробка №2) іммобілізації клітин на синтетичному носії показники залишкової концентрації конкретного політанта значуще відрізнялись від третього варіанту (обробка №3) і від контролю (рис. 3), що свідчить про високу метал-акумулюючу та ПАР- і нафтодеструктивну активність. Також наочно видно відмінність цих варіантів між собою в залежності від типу забруднювача (рис. 3).

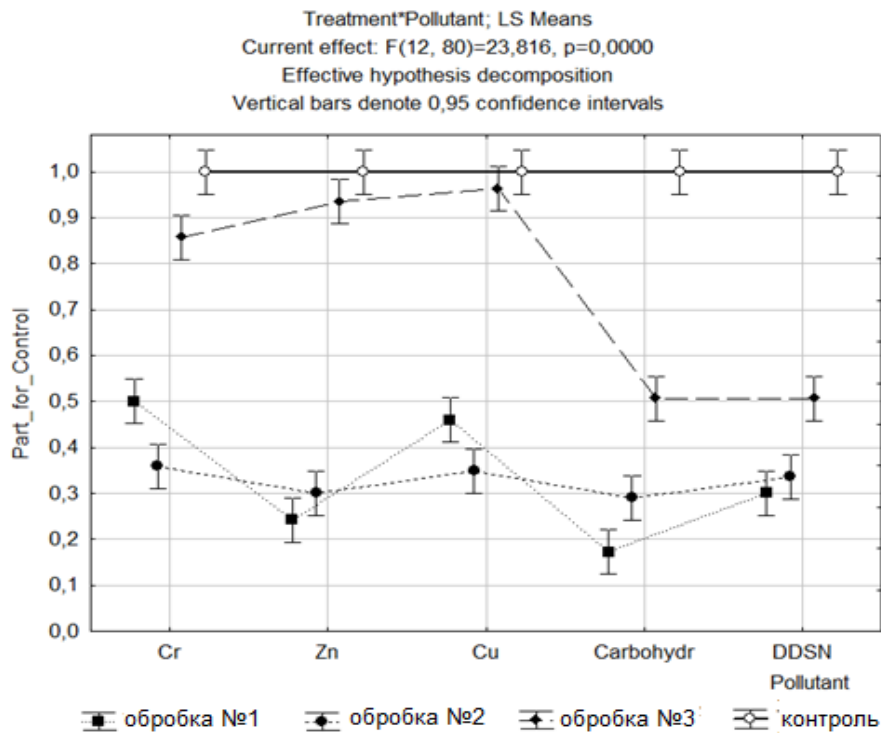


Рис. 3. Середні значення дослідів (в частках від середнього значення контролю – Part_for_Control) за різної обробки (Treatment) і типу забруднювача (Pollutant)

Позначення: обробка №1 – іммобілізованими бактеріями у складі біофлорів на поверхні штучного носія; обробка №2 – клітинами бактерій, іммобілізованими на штучному носії без флокуляції; обробка №3 – вільними клітинами бактерій.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що іммобілізація асоціації морських бактерій (*P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. seracia* ONU327, №38, №39, №41, №47) сприяє підвищенню їх метал-акумулюючої та деструктивної активності, що дозволило використати їх в різних технологіях очищення багатоконпонентної за складом морської води від неорганічних і органічних політантаів (у вихідних концентраціях, що перевищують ГДК). Експериментальне випробування підтвердило, що при використанні синтетичного носія типу «ВІЯ» з іммобілізованими за спеціальною технологією на його поверхні бактеріями (обробка №1 і №2) досягаються максимальні результати по очищенню морської води як від неорганічних, так і органічних політантаів (за їх сумісної присутності). Ступінь очищення морської води від неорганічних політантаів (Cr (VI), Zn (II), Cu (II)) був у межах від 50,0% до 75,5%, від органічних політантаів – від 74% (для ДДСН) до 83% (для вуглеводнів нафти).

Виявлене дозволяє рекомендувати використовувати іммобілізовані у складі біофлорів на поверхні синтетичного носія типу «ВІЯ» непатогенні штами морських бактерій з поліфункціональною активністю у новій технології очищення морської води в умовах багатоконпонентного за складом політантаів забруднення.

Висловлюємо щире подяку Д.А.Шабанову, професору кафедри зоології та екології тварин Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна, який, як рецензент, надав слушні

поради щодо поліпшення представлення результатів експерименту та допоміг в проведенні статистичного аналізу експериментальних даних.

Список літератури

- Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия / Под ред. Е.Н.Вергейчика – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400с. /Vergeychik T.Kh. Toksikologicheskaya khimiya / Pod red. Ye.N.Vergeychika – M.: MEDpress-inform, 2009. – 400s./
- Гвоздяк П.І., Кузьмінський Є.В., Саблій Л.А., Жукова В.С. Спосіб біологічного очищення стічних вод. Патент України на корисну модель №81251. 2013. Опубл. 25.06.2013. Бюл. №12. /Gvozdyak P.I., Kuzminskyy Ye.V., Sabliy L.A., Zhukova V.S. Sposib biologichnogo ochyshchennya stichnykh vod. Patent Ukrainy na korysnu model' №81251. 2013. Opubl. 25.06.2013. Byul. №12./
- Глоба Л.И., Гвоздяк П.И. Биологическая деноксация химических патогенов в водной среде // Гигиена и санитария. – 2015. – №1. – С. 46–50. /Globa L.I., Gvozdyak P.I. Biologicheskaya denoksatsiya khimicheskikh patogenov v vodnoy srede // Gigiyena i sanitariya. – 2015. – No. 1. – S. 46–50./
- ГОСТ 17.1.5.05-85. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков. /GOST 17.1.5.05-85. Okhrana prirody. Hidrosfera. Obshchiye trebovaniya k otboru prob poverhnostnykh i morskikh vod, l'da i atmosferynykh osadkov./
- Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Беляєва Т.О. та ін. Вилучення міді (II) та нікелю (II) із концентрованих водних розчинів глиною, хітозаном та іммобілізованими мікроорганізмами // Мікробіологія і біотехнологія. – 2012. – №4. – С. 36–43. /Gudzenko T.V., Volyuvach O.V., Belyayeva T.O. ta in. Vyluchennya midi (II) ta nikelju (II) iz kontsentrovanykh vodnykh rozchyniv glynoyu, khitozanom ta immobilizovanyymi mikroorganizmamy // Mikrobiologiya i biotekhnologiya. – 2012. – No. 4. – S. 36–43./
- Зайцев Ю.П. Введение в экологию Черного моря. – Одесса: Эвен, 2006. – 224с. /Zaytsev Yu.P. Vvedeniye v ekologiyu Chernogo morya. – Odessa: Ewen, 2006. – 224s./
- Леоненко И.И., Антонович В.П., Андрианов А.М. и др. Методы определения нефтепродуктов в водах и других объектах окружающей среды (обзор) // Методы и объекты химического анализа. – 2010. – Т.5, №2. – С. 58–72. /Leonenko I.I., Antonovich V.P., Andrianov A.M. i dr. Metody opredeleniya nefteproduktov v vodakh i drugikh obyektakh okruzhayushchey sredy (obzor) // Metody i obyekty himicheskogo analiza. – 2010. – T.5, no. 2. – S. 58–72./
- Обобщенный перечень предельно-допустимых концентраций и ориентировочно безопасных уровней вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. (утв. Главрыбводом Минрыбхоза СССР от 09.08.1990 г. № 12-04-11. /Generalized list of maximum permissible concentrations and approximately safe levels of harmful substances to water fishery reservoirs. (app. Glavrybvod of the USSR Ministry of fishery from 09.08.1990, No. 12-04-11/
- Унифицированные методы анализа вод / Под ред. Ю.Ю.Лурье. – М.: Химия, 1971. – 400с. /Unifitsirovannye metody analiza vod / Pod red. Yu.Yu.Lurye. – M.: Khimiya, 1971. – 400s./
- Chasovnikov V., Chjoo V., Ocherednik O., Maryasova E. Evaluation of the lever of technogenic pollution in the coastal zone of the Black Sea near Gelendzhik // Marine Chemistry. – 2016. – Vol.56, no. 1. – P. 76–80.
- Galkin M.B., Ivanytsia V.O., Ishkov Yu.V. et al. Characteristics of the *Pseudomonas aeruginosa* PA01 intercellular signaling pathway (quorum sensing) functioning in presence of porphyrins bismuth complexes // Pol. J. Microbiol. – 2015. – Vol.64 (2). – P. 101–106.
- Gudzenko T., Voliuvach O., Belyaeva T. et al. Oil oxidative activity of some strains of bacteria of *Pseudomonas* genus // Microbiology & Biotechnology. – 2013. – No. 4 (24). – P. 72–80.
- Gudzenko T., Voliuvach O., Belyaeva T. et al. Remove of hexadecylpyridinium bromide from aqueous solutions by bacteria of the genus *Pseudomonas* in their interaction with clay mineral and chitosan // Microbiology & Biotechnology. – 2014. – No. 1 (25). – P. 72–78.
- Koray Ozseker, Coskun Eruz, Sadi Ciliz Determination of coppel pollution and associated ecological risk in coastal sediments of southeastern Black Sea region, Turkey // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2013. – Vol.91. – P. 661–666.
- Levent Altas, Hanife Buyukgungor Heavy metal pollution in the Black Sea shore and offshore of Turkey // Environ Geol. – 2007. – Vol.52. – P. 469–476.
- Min'kovskaya R. Contamination of the Black Sea surface water layer with oil hydrocarbons // Russian Meteorology and Hydrology. – 2014. – Vol.39, no. 10. – P. 705–712.

Представлено: О.М.Нікіпелова / Presented by: O.M.Nikipelova
Рецензент: Д.А.Шабанов / Reviewer: D.A.Shabanov
Подано до редакції / Received: 23.10.2017